饮用酵母发酵菌液对矮脚黄肉鸡生长性能、消化酶活性和盲肠菌落结构的影响

李璐琳[1] 曹 珍[2] 钟 珊[1] 廖新俤[1,3] 王 燕[1,3] 吴银宝[1,3*]

（1.华南农业大学动物科学学院，广州 510642；2.广东省温氏食品集团股份有限公司，新兴 527400；3.农业部华南热带农业环境重点实验室，广州 510642）

摘 要：本文以矮脚黄肉鸡为研究对象，探讨从不同日龄起分别饮用 2 种以酵母菌为主要活性成分的发酵菌液对肉鸡生长性能、消化酶活性和盲肠菌落结构的影响，为发酵菌液在肉鸡生产中的应用提供依据。选取 1 日龄健康矮脚黄肉鸡母鸡 1 680 只，随机分为 6 组，每组 4 个重复，每个重复 70 只鸡。抗生素对照组（A 组）在基础饲粮中添加 30 mg/kg 维吉尼霉素，空白对照组（B 组）饲喂基础饲粮，试验组（C、D、E 和 F 组）饲喂基础饲粮，分别按 2 种发酵菌液、14 和 27 日龄 2 个开始饮用日龄分为 4 个组，2 种发酵菌液在饮水中的添加水平为饮水量的 3%。试验期 78 d。分别于 26、56 和 78 日龄测定肉鸡的生长性能、十二指肠内容物消化酶活性、盲肠内容物细菌多样性等指标。结果表明：1）与空白对照组相比，27～56 日龄，27 日龄起饮用发酵菌液 2 肉鸡的料重比显著降低（$P<0.05$）；57～78 和 14～78 日龄，14 日龄起饮用发酵菌液 1 和发酵菌液 2 肉鸡的料重比显著降低（$P<0.05$）。2）与空白对照组相比，56 日龄时，27 日龄起饮用发酵菌液 2 肉鸡的十二指肠内容物淀粉酶活性显著升高（$P<0.05$）；26 和 78 日龄时，14 日龄起饮用发酵菌液 1 肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性显著升高（$P<0.05$）。3）78 日龄时，14 日龄起饮用发酵菌液 2 和 27 日龄起饮用发酵菌液 1 肉鸡的盲肠内容物细菌多样性指数显著高于空白对照组（$P<0.05$）；饮用发酵菌液使肉鸡的盲肠内容物细菌群落结构趋于一致，且越到试验后期相似性越高。由此可见，14 日

收稿日期：2018-02-26

基金项目：广东省现代农业产业共性技术创新团队建设项目（2016LM2152）；广东温氏食品股份有限公司科研项目（5DA201304022626666）

作者简介：李璐琳(1988—)，女，河南新郑人，硕士研究生，从事动物营养生态研究。E-mail: 80293947@qq.com

*通信作者：吴银宝，教授，博士生导师，E-mail: wuyinbao@scau.edu.cn

龄起给矮脚黄肉鸡饮用以酵母菌为主要活性成分的发酵菌液，可改变盲肠微生物组成，提高胰蛋白酶活性，有效降低料重比，提高养殖效率。

关键词：矮脚黄肉鸡；发酵菌液；酵母菌；生长性能；盲肠微生物

中图分类号：S831　　　　文献标识码：　　　　文章编号：

有益菌复合培养而成的微生物液体制剂，不但含有有益菌群，而且含有有益菌群在分解底物过程中所产生的多种活性物质[1]。因此，发酵菌液在畜禽养殖中的应用引起人们的关注。研究表明，发酵菌液应用于畜禽养殖中可提高饲料利用率，增强动物免疫力，有效控制大肠杆菌病，进而促进动物生长；还可以改善饲养环境，抑制并消除氨气[2-5]。袁玲等[6]饲喂雏鸡含有乳酸菌菌体和全菌液制剂的饲粮后发现，与空白对照组相比，活菌数为 3.7×10^6 和 5.8×10^6 CFU/g 的高剂量试验组可显著提高雏鸡的日增重，极显著降低料重比；与添加黄曲霉素的抗生素对照组相比，能够提高盲肠中乳酸菌数量，抑制大肠杆菌的繁殖；表明雏鸡饲粮中添加乳酸菌菌体和全菌液制剂具有促进生长和改善盲肠菌群的作用。姚红[7]研究表明，在蛋用雏鸡饲粮中添加 0.3%酵母菌培养物和 0.02%低聚木糖，其料重比显著低于空白对照组和添加盐酸恩诺沙星的抗生素对照组，表明酵母菌培养物和低聚木糖具有提高蛋用雏鸡生长性能和免疫功能的效果。张彩凤等[8]研究表明，乳酸菌和酵母菌复合制剂可以提高肉仔鸡的生长性能，改善肠道黏膜形态和肠道微生物区系，促进生长，且肉仔鸡饲粮中添加 1 000 mg/kg 乳酸菌和酵母菌复合制剂可以替代或部分替代维吉尼霉素的促生长作用。

目前饮用发酵菌液的相关研究主要集中在不同添加水平或不同菌剂方面，未见有关发酵菌液适宜添加阶段的报道。因此，本文选用 2 种不同来源的酵母菌制作发酵菌液，并分不同开始饮用日龄进行肉鸡饲养试验，比较 2 种发酵菌液替代抗生素在肉鸡生产中的应用效果，得出发酵菌液的适宜添加阶段，为发酵菌液在肉鸡生产中的应用提供依据。

1　材料与方法

1.1　试验设计

试验所用 2 种发酵菌液（发酵菌液 1 和发酵菌液 2）分别由广东温氏食品集团有限公司技术中心和广西助农畜牧科技有限公司提供，主要活性成分均为酵母菌。2 种发酵菌液中酵母菌的平均活菌数分别为 1.625×10^{6} 和 1.374×10^{7} CFU/mL。发酵菌液制作过程为：20 kg 清水+1 kg 玉米粉+30 g 菌种+0.25 kg 红糖，搅拌均匀后密封，进行厌氧发酵，发酵 2~3 d 有酒精香味后即可给鸡饮用。试验所用维吉尼霉素有效含量为 50%。

选取同批次 1 日龄矮脚黄肉鸡母鸡 1 680 只，随机分为 6 组，每组 4 个重复，每个重复 70 只鸡。A 组为抗生素对照组，饮用清水，在基础饲粮中添加 30 mg/kg 维吉尼霉素；B 组为空白对照组，饮用清水，饲喂基础饲粮；C 组自 14 日龄起在饮水中添加 3%发酵菌液 1，饲喂基础饲粮；D 组自 14 日龄起在饮水中添加 3%发酵菌液 2，饲喂基础饲粮；E 组自 27 日龄起在饮水中添加 3%发酵菌液 1，饲喂基础饲粮；F 组自 27 日龄起在饮水中添加 3%发酵菌液 2，饲喂基础饲粮。

1.2　饲养管理

试验肉鸡采用网床平养模式饲养，试验全程自由采食和饮水，按照免疫程序进行免疫。试验过程中密切观察试验鸡情况，发现死鸡立即称重，记录并处理。试验期 78 d。14~78 日龄为正试期。肉鸡分阶段饲养，其中 1~26 日龄为第 1 阶段；27~56 日龄为第 2 阶段；57~78 日龄为第 3 阶段。不同饲养阶段采用不同的饲粮配方，营养指标参考 NRC（1994）禽营养需要。各饲养阶段基础饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of basal diets (air-dry basis)　　　　%

项目 Items	1~26 日龄 1 to 26 days of age	27~56 日龄 27 to 56 days of age	57~78 日龄 57 to 78 days of age
原料 Ingredients			
玉米 Corn	52.00	60.00	64.00

豆粕 Soybean meal	19.00	7.00	4.00
小麦 Wheat	10.00	10.00	8.00
棉籽粕 Cottonseed meal	5.00	8.00	8.00
可溶性干酒糟 DGGS	5.00	5.00	6.00
玉米蛋白粉 Corn gluten meal	5.50	6.50	6.50
石粉 Limestone	1.00	1.00	1.00
碳酸氢钙 $Ca(HCO_3)_2$	1.00	1.00	1.00
食盐 NaCl	0.50	0.50	0.50
预混料 Premix[1)]	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient Levels[2)]			
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.13	12.47	12.65
粗蛋白质 CP	20.40	17.50	17.10
粗脂肪 EE	4.20	4.60	4.60
粗纤维 CF	2.70	2.80	2.60
钙 Ca	0.90	0.80	0.70
非植酸磷 Nonphytate P	0.45	0.41	0.38

[1)]预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 12 500 IU，VD_3 3 000 IU，VE 28 IU，VB_1 2.5 mg，VB_2 7.5 mg，VB_{12} 0.01 mg，*D*−泛酸 *D*-pantothenic acid 15 mg，烟酸 nicotinic acid 50 mg，生物素 biotin 0.07 mg，Cu 7 mg，Fe 50 mg，Zn 64 mg，Mn 80 mg。

[2)]计算值。Calculated values.

1.3 样品采集

分别于26、56和78日龄称重后，每个重复选取体重接近平均体重的3只鸡进行屠宰试验，采集十二指肠和盲肠内容物样品，以备处理和测定。

1.4 测定指标

1.4.1 生长性能

试验开始时以重复为单位对全部鸡称重，之后分别于14、26、56和78日龄时以重复为单位称重。称重前1天22:00停料，自由饮水，次日08:00称重，称重后计算平均日增重。试验期间每天记录每个重复鸡的饲粮饲喂量，并在每个阶段停料时对剩料进行称重，分别计算每栏鸡的平均日采食量。平均日采食量和平均日增重的比值即为某时期肉鸡的料重比。

1.4.2 肠道指标

1.4.2.1 十二指肠内容物消化酶活性

收集26、56和78日龄各组所屠宰的3只鸡的十二指肠内容物，取0.5 g加入4.5 mL 0.15 mol/L生理盐水，漩涡振荡器高速漩涡5 min至混合均匀，于冷冻离心机4 ℃、13 000 r/min离心15 min，取上清液作为十二指肠内容物酶液，用于测定淀粉酶和胰蛋白酶活性。采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定，其中淀粉酶采用C016试剂盒，胰蛋白酶采用A080-2试剂盒。

1.4.2.2 盲肠内容物细菌多样性

收集26、56和78日龄各组所屠宰的3只鸡的盲肠内容物，采用E.Z.N.A.TM Soil DNA Kit试剂盒（OMEGA公司）提取盲肠内容物细菌总DNA，将提取的DNA分装保存于-20 ℃冰箱备用。

采用聚合酶链式反应–变性梯度凝胶电泳（PCR-DGGE）技术测定盲肠内容物细菌群落结构多样性。采用细菌通用引物F357-GC/R518，对提取的DNA样品的16S rDNA基因V3区基因片段进行PCR扩增，引物均由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成，引物序列见表2。

表 2　细菌引物序列

Table 2　Primer sequences of bacteria

引物 Primers	引物序列 Primer sequence （5′—3′）	产物大小 Product size/bp	参考文献 Reference
R518	ATTACCGCGGCTGCTGG	194	Muyzer 等[9]
F357-GC	CCTACGGGAGGCAGCAG		

PCR 反应体系为 25 μL：上游和下游引物各 0.5 μL，DNA 模板 1 μL，Premix Mix 12.5 μL，灭菌超纯水 10.5 μL。PCR 反应程序：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 30 s，66.2 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，35 个循环；72 ℃再延伸 5 min；4 ℃保存。PCR 程序结束后将所得产物于 2%琼脂糖凝胶、130 V 电压下电泳 23 min，采用凝胶成像系统检测目的条带，并拍照记录。采用 BIO-RAD DCode^{TM} Universal Mutation Detection System（基因突变检测系统）对细菌 PCR 产物进行 DGGE 分析。

使用 Quantity One 软件分析 DGGE 图谱，并计算 Shannon’s 多样性指数 H′ [10]。

$$H' = -\sum_{i=1}^{s} Pi \cdot \ln(Pi)$$

式中：H' 为 Shannon’s 多样性指数，H' 值越大说明样品的多样性程度越高；s 为每个泳道条带数；Pi 为每个条带强度占总条带强度的比例。

利用 Phroetix-1D（Totallb）和 Phroetix-1D Pro（Totallb）软件对 DGGE 电泳图谱进行相似性分析，得到各个泳道间的相似性指数，即戴斯系数（Dice’s coefficient，Cs），根据 Cs 得到各个泳道相似性系数矩阵图，用非加权组平均法（unweighted pair group mean average，UPGMA）将相似性系数矩阵转化为相似性聚类树状图，然后对聚类树状图进行分析。

1.5　数据统计分析

数据统计结果用平均值±标准误（meam±SE）表示，数据分析时依据试验设计对所获数

据进行单因素方差分析（one-way ANOVA），采用 SPSS 17.0 软件中的 Duncan 氏法进行多重比较检验分析，*P*<0.05 表示差异显著，*P*>0.05 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 饮用发酵菌液对肉鸡生长性能的影响

饮用发酵菌液对肉鸡生长性能的影响见表 3。由表可知，各阶段各组间肉鸡的体重、平均日增重和平均日采食量均无显著差异（*P*>0.05）。14～26 日龄，各组间的料重比无显著差异（*P*>0.05）；27～56 日龄，F 组的料重比显著低于空白对照组（*P*<0.05），其余各组间无显著差异（*P*>0.05）；57～78 日龄，C 和 D 组的料重比显著低于空白对照组（*P*<0.05），其余各组间无显著差异(*P*>0.05)；14～78 日龄，C 和 D 组的料重比显著低于空白对照组(*P*<0.05)，其余各组间无显著差异（*P*>0.05）。值得注意的是，各饮用发酵菌液组的生长性能指标与抗生素对照组相比均无显著差异（*P*>0.05）。

表 3　饮用发酵菌液对肉鸡生长性能的影响

Table 3　Effects of drinking fermented microorganism inoculants on growth performance of broilers

项目 Items	日龄 Days of age	组别 Groups A	B	C	D	E	F
体重 BW/g	14	149.42±1.51	149.03±1.93	149.08±2.30	149.97±1.11	149.08±1.17	149.53±2.25
	26	308.25±2.56	317.30±8.19	311.44±9.24	307.74±3.06	314.63±9.31	303.48±5.84
	56	953.96±4.32	956.86±18.04	956.17±6.31	958.32±12.23	947.45±9.19	958.74±15.07
	78	1 457.67±16.01	1 450.99±26.03	1 476.49±22.51	1 480.65±11.55	1 443.80±9.04	1 465.60±27.56
平均日增重 ADG/g	14~26	14.44±0.27	15.30±0.64	14.76±1.02	14.34±0.34	15.10±0.81	13.99±0.46
	27~56	21.64±0.16	21.34±0.40	21.54±0.43	21.71±0.38	21.15±0.23	21.92±0.27
	57~78	24.01±0.84	23.52±0.72	24.80±0.84	24.88±0.29	23.66±0.15	24.11±0.64
	14~78	17.36±0.20	17.22±0.35	17.59±0.30	17.62±0.12	17.15±0.12	17.43±0.32
平均日采食量 ADFI/g	14~26	36.57±0.38	36.01±0.62	36.24±0.96	36.02±0.37	37.74±0.99	36.07±0.64
	27~56	59.84±0.73	60.32±0.95	59.29±0.89	60.04±0.92	59.25±0.40	59.72±1.14
	57~78	94.71±2.04	93.90±2.30	93.58±2.41	94.14±0.55	92.13±0.72	93.08±1.29
	14~78	55.60±0.83	55.47±0.92	55.01±0.90	55.43±0.46	54.78±0.35	55.01±0.85
料重比 F/G	14~26	2.53±0.03	2.37±0.11	2.48±0.10	2.51±0.04	2.51±0.07	2.58±0.04
	27~56	2.77±0.03^{ab}	2.83±0.02^{a}	2.75±0.02^{ab}	2.77±0.02^{ab}	2.81±0.03^{ab}	2.73±0.02^{b}
	57~78	3.95±0.10^{ab}	3.99±0.03^{a}	3.78±0.05^{b}	3.78±0.03^{b}	3.89±0.03^{ab}	3.86±0.05^{ab}

14~78	3.20±0.03^{ab}	3.22±0.02^{a}	3.13±0.02^{b}	3.15±0.01^{b}	3.20±0.02^{ab}	3.16±0.01^{ab}

同行数据肩标相同或无字母表示差异不显著(P＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(P＜0.05)。

In the same row, values with the same or no letter superscripts mean no significant difference (P＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P＜0.05).

2.2 饮用发酵菌液对肉鸡肠道指标的影响

2.2.1 饮用发酵菌液对肉鸡十二指肠内容物消化酶活性的影响

淀粉酶和蛋白酶是肉鸡肠道内重要的消化酶，其活性高低反映了肉鸡对营养物质的利用能力，直接影响肉鸡的生长性能，因此本试验测定了各组肉鸡不同日龄时的十二指肠内容物淀粉酶和胰蛋白酶活性。

2.2.1.1 淀粉酶活性

饮用发酵菌液对肉鸡十二指肠内容物淀粉酶活性的影响见表 4。由表可知，26 日龄时，C 组肉鸡的十二指肠内容物淀粉酶活性最高，抗生素对照组其次，空白对照组最低，但各组间无显著差异（P>0.05）。56 日龄时，C、D、E 和 F 组的十二指肠内容物淀粉酶活性均高于空白对照组，且 F 组显著高于空白对照组和 E 组（P<0.05），其余各组间差异不显著（P>0.05）。78 日龄时，抗生素对照组、C 和 D 组的十二指肠内容物淀粉酶活性均略高于空白对照组，但各组间差异不显著（P>0.05）。

表 4 饮用发酵菌液对肉鸡十二指肠内容物淀粉酶活性的影响

Table 4 Effects of drinking fermented microorganism inoculants on amylase activity in duodenal contents of broilers U/mg prot

组别 Groups	26 日龄 26 days of age	56 日龄 56 days of age	78 日龄 78 days of age
A	3.23±0.06	1.17±0.04^{ab}	2.89±0.23

B	2.84±0.16	0.98±0.16^{b}	2.67±0.06
C	3.26±0.10	1.16±0.08^{ab}	2.94±0.08
D	2.89±0.11	1.25±0.07^{ab}	2.70±0.14
E	—	1.03±0.07^{b}	2.65±0.03
F	—	1.36±0.13^{a}	2.59±0.07

同列数据肩标相同或无字母表示差异不显著(*P*＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(*P*＜0.05)。下表同。

In the same column, values with the same or no letter superscripts mean no significant difference (*P*＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (*P*＜0.05). The same as below.

2.2.1.2　胰蛋白酶活性

饮用发酵菌液对肉鸡十二指肠内容物胰蛋白酶活性的影响见表 5。由表可知，26 日龄时，C 组肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性显著高于空白对照组、抗生素对照组和 D 组（*P*<0.05），表明与空白对照组相比，14 日龄起饮用发酵菌液 1 可提高 26 日龄肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性，促进机体对饲粮蛋白质的消化吸收。56 日龄时，抗生素对照组的十二指肠内容物胰蛋白酶活性最高，空白对照组最低，且 2 组间差异显著（*P*<0.05）；除 F 组外，各饮用发酵菌液组的十二指肠内容物胰蛋白酶活性均略高于空白对照组，但差异不显著（*P*>0.05）。78 日龄时，各饮用发酵菌液组的十二指肠内容物胰蛋白酶活性均高于空白对照组，且以 C 组最高，C 组显著高于空白对照组和 E 组（*P*<0.05），其余各组间差异不显著（*P*>0.05）。这说明，与空白对照组相比，14 日龄起饮用发酵菌液 1 可提高 78 日龄肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性，进而促进机体对蛋白质的消化吸收。

表 5　饮用发酵菌液对肉鸡十二指肠内容物胰蛋白酶活性的影响

Table 5　Effects of drinking fermented microorganism inoculants on trypsin activity in duodenal

contents of broilers U/mg prot

组别 Groups	26 日龄 26 days of age	56 日龄 56 days of age	78 日龄 78 days of age
A	1 397.96±12.65[b]	1 291.25±10.35[a]	1 298.00±21.91[ab]
B	1 483.32±37.49[b]	1 188.08±26.11[b]	1 173.07±54.40[b]
C	1 639.79±37.21[a]	1 240.09±25.52[ab]	1 327.81±39.99[a]
D	1 411.92±39.00[b]	1 256.12±27.09[ab]	1 204.99±27.99[ab]
E	—	1 236.43±42.20[ab]	1 191.19±14.48[b]
F	—	1 167.75±25.41[b]	1 289.89±48.46[ab]

2.2.2 饮用发酵菌液对肉鸡盲肠内容物细菌多样性的影响

利用 Quantity One 软件对 PCR-DGGE 电泳图谱进行分析，并计算多样性指数 H′，结果见表 6。由表可知，26 日龄时，各组肉鸡的盲肠内容物细菌多样性指数以抗生素对照组为最低，且显著低于空白对照组和 C 组（P<0.05），其余各组间无显著差异（P>0.05），表明与空白对照组相比，饲粮中添加维吉尼霉素显著抑制了 26 日龄肉鸡的盲肠内容物细菌多样性，而饮用发酵菌液则无显著影响，这也说明饮用发酵菌液未显著影响 26 日龄肉鸡盲肠菌群的形成和发展。56 日龄时，各组的盲肠内容物细菌多样性指数以饮用发酵菌液 2 的 D 和 F 组略高；与抗生素对照组和空白对照组相比，除 E 组外，其他饮用发酵菌液组的盲肠内容物细菌多样性指数均有所提高，但各组间差异不显著（P>0.05）。78 日龄时，空白对照组的盲肠内容物细菌多样性指数最低，其次为抗生素对照组，各饮用发酵菌液组均高于对照组，且 D 和 E 组显著高于其他各组（P<0.05），说明饮用发酵菌液可在一定程度上提高 78 日龄肉鸡的盲肠内容物细菌多样性。

表 6 饮用发酵菌液对肉鸡盲肠内容物细菌多样性指数的影响

Table 6 Effects of drinking fermented microorganism inoculants on diversity index of

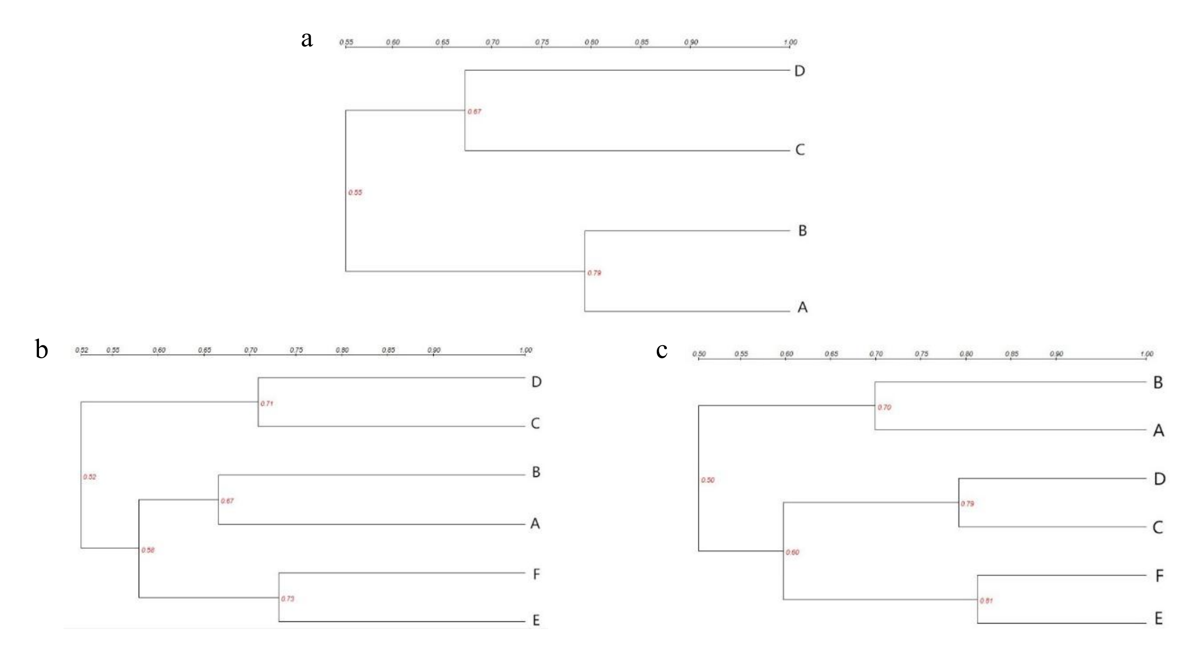
bacteria in cecum contents of broilers

组别 Groups	26 日龄 26 days of age	56 日龄 56 days of age	78 日龄 78 days of age
A	1.09 ± 0.09^{b}	1.64 ± 0.10	1.07 ± 0.12^{b}
B	1.47 ± 0.10^{a}	1.70 ± 0.17	0.98 ± 0.05^{b}
C	1.51 ± 0.09^{a}	1.72 ± 0.10	1.13 ± 0.13^{b}
D	1.31 ± 0.12^{ab}	1.79 ± 0.11	1.54 ± 0.11^{a}
E	—	1.50 ± 0.20	1.56 ± 0.15^{a}
F	—	1.93 ± 0.08	1.15 ± 0.14^{b}

2.2.3 饮用发酵菌液对肉鸡盲肠内容物细菌群落结构相似性的影响

26 日龄肉鸡盲肠内容物细菌群落结构相似性的聚类分析见图 1-a。由图可知，各组间相似性为 0.55，其中空白对照组和抗生素对照组可先归为一类，相似性为 0.79；C 和 D 组归为一类，相似性为 0.67。由于肉鸡盲肠微生物约在 6～7 周龄才能建立起相对稳定的群落结构[11]，因此在该阶段肉鸡盲肠微生物数量和种类变化较大[12]，外源微生物的进入会使其种类发生变化，表现为与空白对照组的细菌群落结构相似性降低。56 日龄肉鸡盲肠内容物细菌群落结构相似性的聚类分析如图 1-b。由图可知，抗生素对照组和空白对照组同样先归为一类，相似性为 0.67；C 和 D 组归为一类，相似性为 0.71；E 和 F 组归为一类，相似性为 0.73。这说明在相同起始日龄饮用发酵菌液可促使盲肠细菌群落结构趋于一致，且与 26 日龄相比，C 和 D 组的细菌群落结构相似性从 0.67 提高至 0.71，说明继续饮用发酵菌液会使盲肠细菌群落结构更加相似，更好地促进盲肠细菌群落结构的建立与稳定。78 日龄肉鸡盲肠内容物细菌群落结构相似性的聚类分析如图 1-c。由图可知，抗生素对照组和空白对照组同样先归为一类，相似性为 0.70；C 和 D 组归为一类，相似性为 0.79；E 和 F 组归为一类，相似性为 0.81。由此说明，相同起始日龄饮用发酵菌液确实促进盲肠内容物细菌群落结构趋

于一致，且 78 日龄与 56 日龄相比，C 和 D 组的细菌群落结构相似性从 0.71 提高至 0.79，E 和 F 组的细菌群落结构相似性从 0.73 提高至 0.81，表明持续饮用发酵菌液提高了盲肠内容物细菌群落结构的相似性和稳定性。



a：26 日龄；b：56 日龄；c：78 日龄。a: 26 days of age; b: 56 days of age; c: 78 days of age.

图 1　不同日龄肉鸡盲肠内容物细菌群落结构相似性的聚类分析

Fig.1　Clustering analysis on the similarity of bacterial community structure in cecum contents of broilers at different days of age

3　讨　论

3.1　饮用发酵菌液对肉鸡生长性能的影响

微生态制剂在畜禽生产上的应用已经非常普遍，且研究表明饲粮中添加微生态制剂具有提高畜禽增重和饲料转化率的作用[13-14]。发酵菌液是由有益菌属培养而成的微生物液体制剂，目前在畜禽生产上的应用主要有饲粮中添加、饮水中添加、用于消毒和粪便处理等[15]。本试验将 2 种发酵菌液按肉鸡不同饲养阶段添加到饮水中后，发现与空白对照组相比，14 日龄起饮用发酵菌液能显著降低饲养期肉鸡的料重比，而 27 日龄起饮用发酵菌液也降低了

饲养期肉鸡的料重比，但无显著差异，2 种发酵菌液间也无显著差异，说明 14 日龄起比 27 日龄起在饮水中添加发酵菌液更有利于提高养殖效率，取得更好的养殖效果。其原因可能是随着连续饮用发酵菌液，肉鸡逐步适应并建立了该条件下的肠道菌群，保证了肉鸡肠道健康并促进了对营养物质的消化吸收，由此显著降低了肉鸡的料重比，提高了养殖效益[16-17]。郭伶等[18]研究酵母培养物对肉仔鸡生长性能的影响，发现 21～42 日龄时试验组的料重比与对照组相比降低 4.85%，说明饲喂酵母培养物对肉鸡的生长性能具有显著的促进作用，与本试验结果一致。

本研究还设置了抗生素对照组，以确定饮用发酵菌液替代维吉尼霉素的养殖效果，结果表明，与抗生素对照组相比，各饮用发酵菌液组肉鸡的平均日增重、平均日采食量和料重比等指标均无显著差异，且 27 日龄起饮用发酵菌液 1 的试验组和 14 日龄起饮用发酵菌液 2 的试验组显著增加盲肠内容物细菌多样性，14 日龄起饮用发酵菌液 1 的试验组还能够有效提高 26 和 78 日龄肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性，说明可在矮脚黄肉鸡养殖过程中用饮用发酵菌液替代饲粮中添加维吉尼霉素。丁小娟等[19]在研究酿酒酵母培养物替代抗生素的效果时得出，添加酿酒酵母培养物显著提高肉仔鸡的平均日增重和平均日采食量，料重比有一定程度改善，但无显著差异，与本研究结果一致。罗正等[20]研究也表明，益生菌可以替代促生长类兽用抗生素在肉鸡养殖中的应用。

3.2　饮用发酵菌液对肉鸡消化酶活性的影响

微生态制剂作用于动物机体时，会通过自身所产生的多种酶类提高动物对营养物质的消化能力，进而提高饲料转化率，提高动物生长性能[21]。淀粉酶和蛋白酶是肉鸡肠道内重要的消化酶，研究指出，食糜在家禽小肠中停留时间最长[22]，因此小肠消化酶活性的高低直接反映动物机体对营养物质的利用能力[23]。

本研究通过在饮水中添加发酵菌液研究其对肉鸡十二指肠内容物胰蛋白酶和淀粉酶活性的影响，结果显示，各饲养阶段均以空白对照组的酶活性略低，14 日龄起饮用发酵菌液 1

的试验组 26 和 78 日龄时的十二指肠内容物胰蛋白酶活性显著高于空白对照组，这表明饮用发酵菌液可在一定程度上提高肉鸡十二指肠消化酶活性，增强对饲粮蛋白质和碳水化合物的消化吸收，进而降低肉鸡的料重比，提高饲料转化率。这可能是 14 日龄起饮用发酵菌液 1 组肉鸡的料重比显著低于空白对照组的原因之一。

3.3 饮用发酵菌液对肉鸡盲肠菌落结构的影响

鸡的胃肠道中，盲肠含有数量最多的微生物，每克内容物可含 10^{11} 个微生物[24]，且多样性高，因此鸡的盲肠微生物成为人们研究关注的焦点。Mountzouris 等[25]采用荧光原位杂交（FISH）技术分析肉鸡盲肠微生物时发现，饲粮中添加复合微生态制剂能够显著提高盲肠中双歧杆菌数量，有益菌群增加，从而提高肉鸡体增重。本研究通过 PCR-DGGE 技术分析饮用发酵菌液对肉鸡盲肠内容物细菌多样性及相似性的影响，细菌多样性指数的研究结果表明，与空白对照组相比，在肉鸡饮水中添加发酵菌液后，26 和 56 日龄时未显著影响肉鸡肠道正常菌群的形成和发展，但提高了 78 日龄肉鸡的盲肠细菌多样性；同时，与抗生素对照组相比，饮用发酵菌液有利于 26 日龄肉鸡肠道正常菌群的形成和发展，而且可以提高 78 日龄肉鸡的盲肠内容物细菌多样性。细菌多样性提高意味着肠道菌群更易趋于稳定，更易维持肠道健康，进而有助于提高肉鸡的生长性能[26-27]。丁小娟等[19]研究表明，酿酒酵母培养物促进肠道中乳酸菌、双歧杆菌的增殖，抑制大肠杆菌的增殖，因此促进了肠道健康。

细菌群落结构相似性的研究结果表明，饮用发酵菌液组肉鸡的盲肠内容物细菌群落结构趋于一致，而且越到试验后期相似性越高，与此相反的是，越到试验后期饮用发酵菌液组与空白对照组盲肠细菌群落结构的相似性越低，这预示着饮用发酵菌液后可在盲肠内形成相对更为丰富而且不同于空白对照组的细菌群落结构，而且这种细菌群落结构可能能够更有效地消化吸收营养成分，进而使发酵菌液组肉鸡的料重比降低。

4 结 论

饲养矮脚黄肉鸡时，14 日龄起饮用以酵母菌为主要成分的发酵菌液能在盲肠内形成相

对更为丰富的细菌群落结构，有效提高 26 和 78 日龄肉鸡的十二指肠内容物胰蛋白酶活性，进而显著降低 14～78 日龄的料重比，提高养殖效率。

参考文献：

[1] HU C,QI Y C.Long-term effective microorganisms application promote growth and increase yields and nutrition of wheat in China[J].European Journal of Agronomy,2013,46:63–67.

[2] 刘志健,姜君.EM菌对育肥猪生产性能及猪舍内有害气体浓度的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2015(22):62–63.

[3] 王欣.植物乳杆菌及其培养物对肉仔鸡生长性能和免疫功能的影响[D].硕士学位论文.长春:吉林农业大学,2015.

[4] 马海东,高印,高康,等.产木聚糖酶乳酸杆菌对肉仔鸡生产性能、免疫器官指数及血清指标的影响[J].家畜生态学报,2014,35(4):29–33.

[5] NORDESTE R,TESSEMA A,SHARMA S,et al.Molecules produced by probiotics prevent enteric colibacillosis in pigs[J].BMC Veterinary Research,2017,13(1):335.

[6] 袁玲,许丽,徐基利,等.乳酸菌菌体及全菌液制剂对雏鸡生长性能和盲肠菌群的影响[J].中国畜牧杂志,2011,47(13):59–62.

[7] 姚红.酵母菌培养物与低聚木糖合用对蛋用雏鸡生长性能及免疫功能的影响研究[J].山东畜牧兽医,2017,38(11):14–15.

[8] 张彩凤,王晓翠,张海军,等.乳酸菌和酵母菌复合制剂对肉仔鸡生长性能、屠宰性能和肠道健康的影响[J].动物营养学报,2017,29(4):1248–1256.

[9] MUYZER G,DE WAAL E C,UITTERLINDEN A G.Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J].Applied and Environmental Microbiology,1993,59(3):695–700.

[10] 高亦豹.聚合酶链式反应-变性梯度电泳技术(PCR-DGGE)研究中国白酒大曲中微生物群落结构[D].硕士学位论文.无锡:江南大学,2010.

[11] 王桂军,魏建忠,李郁.肠道共生微生物群落与家禽健康[J].中国畜牧兽医,2007,34(02):153–155.

[12] MESA D,LAMMEL D R,BALSANELLI E,et al.Cecal microbiota in broilers fed with prebiotics[J].Frontiers in Genetics,2017,8:153.

[13] ALKHALF A,ALHAJ M,AL-HOMIDAN I.Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens[J].Saudi Journal of Biological Sciences,2010,17(3):219–225.

[14] SEN S,INGALE S L,KIM Y W,et al.Effect of supplementation of *Bacillus subtilis* LS 1–2 to broiler diets on growth performance,nutrient retention,caecal microbiology and small intestinal morphology[J].Research in Veterinary Science,2012,93(1):264–268.

[15] SHOKRYAZDAN P,FASELEH M J,LIANG J B,et al.Probiotics:from isolation to application[J].Journal of the American College of Nutrition,2017,36(8):666–676.

[16] 殷璐瑶,行浩,杨海明,等.益生菌对蛋鸡早期生长、饲粮养分利用和肠道菌群的影响[J].动物营养学报,2017,29(8):2800–2807.

[17] 冯会贤.益生菌的制备及其对固始鸡生产性能、免疫性能和肠道微生态的影响[D].硕士学位论文.郑州:河南农业大学,2015.

[18] 郭伶,陈宝利.酵母培养物对肉仔鸡生长性能及免疫功能的影响[J].中国家禽,2013,35(7):24–26.

[19] 丁小娟,张晓图,王世琼,等.酿酒酵母培养物对817肉仔鸡生长性能、养分表观利用率及肠道菌群的影响[J].动物营养学报,2017,29(7):2391–2398.

[20] 罗正,张得玉,孙业贵,等.益生菌替代肉鸡饲料中促生长抗生素的田间试验[J].饲料工

业,2014,35(13):22–24.

[21] 陈静,谢全喜,刘乃芝,等.复合微生态制剂与饲用抗生素对肉鸡血清生化指标和肠道酶活性的影响[J].畜牧与饲料科学,2012,33(3):15–18.

[22] 高俊勤.木聚糖酶对肉仔鸡肠道消化特性及微生物区系的影响[D].硕士学位论文.南京:南京农业大学,2007.

[23] 张亚伟,李桂冠,杨海增,等.饲喂蒸汽压片玉米对蛋鸡采食量、产蛋性能、蛋品质和小肠消化酶活性的影响[J].中国饲料,2016(18):39–42.

[24] SALANITRO J P,FAIRCHILDS I G,ZGORNICKI Y D.Isolation,culture characteristics,and identification of anaerobic bacteria from the chicken cecum[J].Applied Microbiology,1974,27(4):678–687.

[25] MOUNTZOURIS K C,DALAKA E,PALAMIDI I,et al.Evaluation of yeast dietary supplementation in broilers challenged or not with *Salmonella* on growth performance,cecal microbiota composition and *Salmonella* in ceca,cloacae and carcass skin[J].Poultry Science,2015,94(10):2445–2455.

[26] WANG Y,SUN J,ZHONG H,et al.Effect of probiotics on the meat flavour and gut microbiota of chicken[J].Scientific Reports,2017,7:6400.

[27] GAO P F,MA C,SUN Z,et al.Feed-additive probiotics accelerate yet antibiotics delay intestinal microbiota maturation in broiler chicken[J].Microbiome,2017,5:91.

Effects of Drinking *Saccharomycetes* Fermented Inoculants on Growth Performance, Digestive Enzyme Activities and Cecal Microbiota Structure of Dwarf Yellow Broilers

LI Lulin[1] CAO Zhen[2] ZHONG Shan[1] LIAO Xindi[1,3] WANG Yan[1,3] WU Yinbao[1,3*]

（1. *College of Animal Science*, *South China Agricultural University*, *Guangzhou* 510642, *China*;

*Corresponding author, professor, E-mail: wuyinbao@scau.edu.cn （责任编辑 李慧英）

2. *Guangdong Wens Foodstuffs Group Co., Ltd*, *Xinxing* 527400, *China*; 3. *Key Laboratory of Tropical Agriculture Environment*, *South China, Ministry of Agriculture*, *Guangzhou* 510642, *China*）

Abstract: Using dwarf yellow broilers as research object, this paper was conducted to discuss the effects of drinking two kinds of fermented microorganism inoculants with main active ingredient of *Saccharomyces* from different days of age on growth performance, digestive enzyme activities and cecal microbiota structure to providing basis for the application of fermented microorganism inoculants in broiler production. A total of 1 680 1-day-old healthy female dwarf yellow broilers were randomly allotted into 6 groups with 4 replicates per group and 70 broilers per replicate. Broilers in antibiotic control group (group A) were fed a basal diet supplemented with 30 mg/kg virginiamycin, and that in blank control group (group B) were fed a basal diet, and the others in 4 experimental groups (groups C, D, E and F) were fed basal diets and began to supplement 3% of one of the two fermented microorganism inoculants in daily drinking water from 14-day-old or 27-day-old. The feeding period lasted for 78 days. The growth performance, digestive enzyme activities in duodenal contents and bacterial diversity in cecal contents and so on were measured at 26, 56 and 78 days of age. The results showed as follows: 1) compared with blank control group, the ratio of feed to gain (F/G) of broilers drinking fermented microorganism inoculants 2 from 27 days of age was significantly decreased from 27 to 56 days of age (P<0.05), and F/G of broilers drinking fermented microorganism inoculants 1 and fermented microorganism inoculants 2 from 14 days of age was significantly decreased from 57 to 78 days of age and 14 to 78 days of age (P<0.05). 2) Compared with blank control group, amylase activity in duodenal contents of broilers drinking fermented microorganism inoculants 2 from 27 days of age was significantly increased at 56 days of age (P<0.05), and trypsin activity in duodenal contents of broilers drinking fermented

microorganism inoculants 1 from 14 days of age was significantly increased at 26 and 78 days of age (*P*<0.05). 3) The diversity index of bacteria in cecal contents of broilers drinking fermented microorganism inoculants 2 from 14 days of age and drinking fermented microorganism inoculants 1 from 27 days of age was significantly higher than that in blank control group at 78 days of age (*P*<0.05). Drinking fermented microorganism inoculants made the bacterial community structure in cecal contents of broilers to be uniform, and the bacterial community structure was more similar with the experiment progresses. In conclusion, drinking fermented microorganism inoculants with main active ingredient of *Saccharomyces* from 14 days of age can be helpful for changing the composition of cecum microbial, improving the activity of trypsin, then effectively reducing F/G and increasing the breeding efficiency of the dwarf yellow broiler.

Key words: dwarf yellow broiler; fermented microorganism inoculants; *Saccharomyces*; growth performance; cecal microorganisms